10.22092/spij.2019.123759.1074

مجله به‌نژادی نهال و بذر
جلد ۱-۳۵، شماره ۱، سال ۱۳۹۸

ارزیابی پایداری عملکرد دانه و تغییرات ژنتیکی در ارقام و لاین‌های امیدبخش گندم نان متحمل به شوری

Evaluation of Grain Yield Stability and Genetic Variation in Salt-Tolerant Bread Wheat Promising Lines and Cultivars

حبیب‌اله قزوینی[۱]، مهدیه مرندی[۲] و اشکبوس امینی سفیدآب[۳]

۱- دانشیار، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
۲- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اسلامشهر، تهران، ایران
۳- استادیار، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مرج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۸/۱۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۲/۱۵

چکیده

قزوینی، ح.، مرندی، م. و امینی سفیدآب، ا. ۱۳۹۸. ارزیابی پایداری عملکرد دانه و تنوع ژنتیکی در ارقام و لاین‌های امیدبخش گندم نان متحمل به شوری. **مجله به‌نژادی نهال و بذر ۱-۳۵:** ۲۴-۱.

پایداری عملکرد دانه و تغییرات ژنتیکی ۱۷ ژنوتیپ امیدبخش گندم نان متحمل به شوری به همراه سه رقم شاهد ارگ، بم و افق در دو آزمایش مزرعه‌ای و مولکولی بررسی شد. در آزمایش مزرعه‌ای، مقایسه عملکرد ژنوتیپ‌ها در اراضی شور ایستگاه‌های میلیشبار یزد، امیرآباد بیرجند، رودشت اصفهان، اختیارآباد کرمان و زهک زابل در دو سال زراعی ۹۲-۱۳۹۱ و ۹۳-۱۳۹۲ انجام شد. برای ارزیابی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌ها از ۱۸ نشانگر ریزماهواره (SSR) مرتبط با تحمل به شوری استفاده شد. تجزیه واریانس مرکب عملکرد دانه تفاوت معنی‌دار برای اثر رقم، اثر متقابل سال × مکان و اثر سال × رقم و همچنین اثر متقابل سه‌گانه رقم × سال × مکان نشان داد. مقایسه میانگین ژنوتیپ‌ها با استفاده از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) نشان داد که لاین‌های ۱۴، ۱۶، ۱۱ و ۵ به ترتیب با عملکردهای ۴/۶۴۹، ۴/۵۱۷، ۴/۴۴۱ و ۴/۳۰۰ تن در هکتار دارای عملکرد دانه بالا بودند. با استفاده از روش‌های مختلف تجزیه پایداری ژنوتیپ‌های ۱۱، ۱۵، ۱۶ و ۲۰ (افق) پایداری عملکرد دانه بالایی داشتند. تجزیه خوشه‌ای داده‌های مولکولی به روش UPGMA و تجزیه به بردارهای اصلی (PCoA)، ژنوتیپ‌های مورد مطالعه را در چهار گروه مختلف قرار داد. در مجموع نتایج حاصل از گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها بر اساس داده‌های مولکولی مطابقت کمی با نتایج حاصل از ارزیابی مزرعه‌ای داشت. نتایج آزمون مانتل نشان داد که همبستگی بین عملکرد دانه ژنوتیپ‌های گندم نان در محیط‌های شور با تنوع آللی ژنوتیپ‌ها حدود ۰/۱۳ و غیرمعنی‌دار بود. علی‌رغم این همبستگی ضعیف، نشانگرهای SSR به خوبی توانستند تغییرات و تفاوت موجود میان ژنوتیپ‌های گندم نان مورد ارزیابی را آشکار سازند. این تنوع ژنتیکی می‌تواند به طور موثری در برنامه‌های ملی به‌نژادی تحمل به شوری گندم نان به کارگرفته شود.

واژه‌های کلیدی: تنش شوری، سازگاری، نشانگرهای مولکولی، تجزیه خوشه‌ای، میزان اطلاعات چندشکلی.

نگارنده مسئول: habib_ghazvini@yahoo.com تلفن: ۰۲۶۳۶۷۰۱۱۰۶

مقدمه

گندم نان (*Triticum aestivum* L.) یکی از اولین گیاهانی است که به وسیله انسان زراعت شده و به عنوان مهم‌ترین محصول زراعی دنیا شناخته می‌شود. جدیدترین آمار سازمان خواروبار جهانی در سال ۲۰۱۷ سطح زیر کشت گندم دنیا را برابر ۲۲۰ میلیون هکتار و تولید آن را برابر ۷۵۰ میلیون تن برآورد کرده است (Esmaeilzadeh Moghaddam *et al*., 2017).

سطح زیر کشت گندم در ایران حدود ۶/۲ میلیون هکتار است که بیش از ۵۰ درصد زراعت کشور را به خود اختصاص می‌دهد. گندم آبی با مساحت حدود ۲/۲ میلیون هکتار حدود ۳۵ درصد و سطح گندم دیم ۴ میلیون هکتار در حدود ۶۵ درصد زراعت گندم کشور را تشکیل می‌دهد.

گندم نان غذای اولیه و اصلی اغلب مردم جهان را تشکیل می‌دهد و بعد از برنج و ذرت به عنوان سومین محصول مورد استفاده در تغذیه بشر محسوب می‌شود. حدود۲۱٪ انرژی مورد نیاز جمعیت دنیا مستقیما از گندم نان تامین می‌شود (Shiferaw *et al.*, 2013).

بر اساس تحقیقات انجام شده در هر سال ۱۰۰ میلیون نفر به جمعیت دنیا اضافه می‌شود و مطابق این روند افزایشی جمعیت جهان در سال ۲۰۲۵ میلادی از مرز ۸/۵ میلیارد نفر فراتر خواهد رفت. بر همین اساس پیش‌بینی می‌شود تقاضا برای گندم، براساس تولید و تغییرات ذخیره کشورها، به ۷۶۰ میلیون تن در سال ۲۰۲۰ میلادی، ۸۱۳ میلیون تن درسال ۲۰۳۰ میلادی و به بیش از ۹۰۰ میلیون تن در سال ۲۰۵۰ میلادی افزایش یابد (Maghsoudi Moud, 2009). بنابراین نیاز مبرمی به ارائه راهکارهای اساسی برای افزایش تولید و عرضه جهانی گندم برای برآورده نمودن تقاضای جهانی پیش‌بینی شده در سال‌های آینده می‌باشد.

گندم نان سازگاری وسیعی به اقلیم‌های مختلف آب و هوایی دارد و به همین دلیل در تمام نقاط دنیا از مناطقی با عرض جغرافیایی بالا تا نزدیک خط استوا کشت می‌گردد. مساحت اراضی قابل کشت محصولات زراعی در جهان ثابت است و یا حتی در بعضی از نقاط دنیا به دلایل متعدد از جمله تنش‌های خشکی و شوری در حال کاهش می‌باشد. یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده کشت گندم در بسیاری از مناطق دنیا مسئله شوری خاک و آب آبیاری می‌باشد. شوری آب و خاک خصوصاً در مناطق خشک و نیمه‌خشک جهان رشدگیاهان و تولید محصولات کشاورزی را محدود نموده وعملکرد ماده خشک را کاهش می‌دهد (Pazira and Sadegzadeh, 1998). شوری موجود در خاک توسط نمک‌های محلول ایجاد می‌شود و تجمع آن نیز از طریق تبخیر و تعرق گیاهی صورت می‌پذیرد. تنش شوری کم مانع رشد گیاه شده و شدت بیشتر آن می‌تواند مرگ گیاه را به دنبال داشته باشد.

برآوردها نشان می‌دهند که ۲۰٪ زمین‌های کشاورزی و ۵۰٪ زمین‌های زراعی در دنیا تحت

تنش شوری هستند (Jaradat *et al*., 2004). طبق آمار سازمان خواربار و کشاورزی ملل متحد (FAO) حدود ۸۳۰ میلیون هکتار از خاک‌های جهان شور هستند و از مجموع ۲۳۰ میلیون هکتار اراضی کشاورزی آبی و ۱۵۰۰ میلیون هکتار اراضی دیم به ترتیب ۴۵ میلیون و ۳۲ میلیون هکتارتحت تاثیر درجاتی از شوری قرار دارند (FAO, 2018).

برآوردها نشان می‌دهد که ۲۵/۵ میلیون هکتار از خاک‌های ایران دارای درجه شوری کم تا متوسط و بیش از ۸/۵ میلیون هکتار دارای درجه شوری زیاد می‌باشند (Quereshi *et al*., 2007). افزون بر این، شرایط خشک و نیمه خشک ایران موجب تشکیل خاک‌های شور و شور شدن روزافزون خاک‌های زراعی می‌شود. در اثر فعالیت‌های بی‌رویه کشاورزی در اراضی مناطق خشک و نیمه‌خشک دنیا و از جمله ایران، خاک‌های شور این مناطق پیوسته در حال گسترش هستند (Haghnia, 2004).

روند فزاینده و روبه رشد شور شدن اراضی در نتیجه بکارگیری روش‌های نامناسب زراعی ، آبیاری غیراصولی و آبیاری با آب‌های غیرمتعارف و با کیفیت پایین و لب‌شور، پایین رفتن سطح سفره‌های آب زیرزمینی و شور و قلیایی شدن آب چاه‌ها می‌باشد که هر ساله باعث از بین رفتن مقادیر متنابهی از محصولات کشاورزی می‌شود. اگر چه در حال حاضر نیز بخش عمده‌ای از منابع آبی و خاک‌های شور در نقاط مختلف جهان برای تولید محصولات کشاورزی مورد استفاده قرار می‌گیرند، ولی می‌توان پیش‌بینی نمود که با رشد روزافزون جمعیت دنیا، در آینده‌ای نزدیک باید شاهد استفاده هر چه بیشتر و بهینه از این گونه منابع بود.

یکی از راهکارهای تولید محصولات زراعی در اراضی تحت تنش شوری، معرفی ارقامی است که با تنش شوری سازگاری داشته باشند و از پایداری عملکرد قابل قبولی در شرایط شور برخوردار باشند. این گونه ژنوتیپ‌ها دارای صفات مرفولوژیکی و فیزیولوژیکی متفاوتی هستند که محیط مناسبی را برای انجام فعالیت‌های متابولیکی سلولی فراهم می‌سازند تا رشد و تولید، کمتر تحت تاثیر تنش قرار گیرد و انباشت مواد در اندام‌ها با روند مناسبی انجام گردد. چنین پدیده‌هایی تحت تاثیر ساختار ژنتیکی، عوامل محیطی وتاثیر متقابل این دو قرار دارند (Loss and Siddique, 1994).

سنجش سازگاری و پایداری عملکرد دانه ارقام و لاین‌های پیشرفته متحمل به شوری گندم می‌تواند کمک موثری در انتخاب ژنوتیپ‌های متحمل به شوری در راستای مدیریت تلفیقی پدیده رو به گسترش شوری می‌باشد و در نهایت سبب افزایش کارآیی فرایند معرفی رقم می‌شود. از سوی دیگر تعیین تنوع مولکولی ارقام و لاین‌های متحمل به شوری گندم می‌تواند نقش موثری در انتخاب والدین تلاقی‌ها نموده و وارد نمودن منابع ژنی متفاوت در

ترکیب لاین‌های به‌نژادی موجب افزایش کارآمدی گزینش برای تحمل به شوری خواهد شد. برای اصلاح تحمل به شوری گندم از طریق وارد نمودن ژن‌های مقاومت به شوری در ارقام سازگار، تنها ارزیابی تفاوت‌های بین واریته‌ای کافی نیست، بلکه ارزیابی تنوع مولکولی ژرم‌پلاسم موجود امری ضروری در شناسایی منابع ژنتیکی تحمل و انتقال ژن‌های تحمل به ارقام زراعی می‌باشد (Munns *et al*., 2000).

هدف از این پژوهش بررسی سازگاری و پایداری لاین‌های امیدبخش و ارقام گندم نان با استفاده از روش‌های تجزیه پایداری تک‌متغیره و چندمتغیره جهت انتخاب ژنوتیپ‌های با عملکرد دانه و پایداری عملکرد دانه بالا تحت تنش شوری و ارزیابی تنوع ملکولی این لاین‌ها بر اساس نشانگرهای مولکولی مرتبط با شوری جهت استفاده در برنامه‌های به‌نژادی گندم نان برای تنش شوری بود.

مواد و روش‌ها

تعداد ۱۷ لاین امیدبخش گندم نان (جدول ۱) به همراه سه رقم شاهد (ارگ، بم و افق) در اراضی شور ایستگاه‌های یزد (میلیشبار)، بیرجند (امیرآباد)، اصفهان (رودشت) ،کرمان (اختیارآباد) و زابل (زهک) به مدت دو سال زراعی (۹۲-۱۳۹۱ و ۹۳-۱۳۹۲) در قالب طرح آزمایشی بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار در شرایط آب و خاک شور کشت و ارزیابی شدند.

عملیات تهیه زمین در شهریور هر سال اجرای آزمایش انجام گرفت و پس از آماده‌سازی زمین، کوددهی اولیه با توجه به آزمون خاک و آب برای هر ایستگاه و فرمول کودی هر منطقه صورت گرفت. شوری آب آبیاری مناطق اجرا آزمایش: Ec_{water} = 8-12ds.m و شوری خاک Ec_{soil} = 9-14ds.m بود. کاشت آزمایشات در نیمه دوم مهر هر سال انجام شد. ابعاد کرت‌ها در کلیه مناطق ثابت و به صورت ۸ خط به طول ۲/۵ متر و فاصله خطوط ۱۵ سانتی‌متر بود. مساحت کاشت سه مترمربع (۳ = ۱/۲ × ۲/۵) و مساحت برداشت ۲/۴ مترمربع (۲/۴ = ۱/۲ × ۲) بود. میزان بذر لازم برای هر تیمار بر اساس وزن هزاردانه و برحسب ۴۵۰ دانه در مترمربع محاسبه و مصرف شد.

برای کنترل علف‌های هرز پهن‌برگ و باریک‌برگ به ترتیب از پوماسوپر و گرانستار استفاده شد. در طول دوره رشد یادداشت‌برداری‌های لازم از برخی صفات مرفولوژیکی و زراعی به عمل آمد. پس از برداشت آزمایشات، تجزیه واریانس مرکب داده‌های عملکرد دانه با فرض ثابت بودن اثر ژنوتیپ و تصادفی بودن اثر سال و مکان و مقایسه میانگین عملکرد دانه ژنوتیپ‌ها با استفاده از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) انجام شد. قبل ازانجام تجزیه واریانس مرکب داده‌ها، آزمون بارتلت به منظور بررسی همگنی واریانس اشتباه‌های آزمایشی انجام شد.

جدول ۱- شجره ارقام و لاین‌های امیدبخش گندم نان مورد بررسی
Table 1. Pedigree of studied bread wheat promising lines/cultivars

ردیف No.	شجره Pedigree
1	ARG (Check 1)
2	BAM (Check 2)
3	KARCHIA
4	NAI60/HN 7//SY/7/ATRAK/6/4777(2)//FKN/GB/3/VEE"S"/4/BUC"S"/RN"S"/5/VEE"S"/TSI
5	NAI60/HN 7//SY/7/ATRAK/6/4777(2)//FKN/GB/3/VEE"S"/4/BUC"S"/RN"S"/5/VEE"S"/TSI
6	NAI60/HN 7//SY/7/ATRAK/6/4777(2)//FKN/GB/3/VEE"S"/4/BUC"S"/RN"S"/5/VEE"S"/TSI
7	NAI60/HN 7//SY/7/ATRAK/6/4777(2)//FKN/GB/3/VEE"S"/4/BUC"S"/RN"S"/5/VEE"S"/TSI
8	SHA 7//HAHN "S"*2/PRL"S"/6/ATRAK/5/4777/FKN/GB/3/VEE"S"/4/BUC"S"/..
9	SHA 7//HAHN "S"*2/PRL"S"/6/ATRAK/5/4777/FKN/GB/3/VEE"S"/4/BUC"S"/..
10	SHA 7//HAHN"S"*2/PRL"S"/3/SW89.3064*2/BORL95
11	SHA 7//HAHN"S"*2/PRL"S"/3/SW89.3064*2/BORL95
12	ALVAND/KRL.14/4/KAVIR/STM/3/KAL//V534/JIT/716)
13	ALVAND/SHOLEH/3/DH-209-1557 F3, VEE"S"/NAC//1-66-22
14	BLOUDAN/3/BB/7C*2//Y50E/KAL/*3/4/SHOLEH/5/KAVIR
15	BLOUDAN/3/BB/7C*2//Y50E/KAL/*3/4/SHOLEH/5/KAVIR
16	BLOUDAN/3/BB/7C*2//Y50E/KAL/*3/4/SHOLEH/5/KAVIR
17	ALVAND/SORKTOKHM//BANK"S"/VEE"S"
18	BLOYKA/4/KAL/BB//CJ "S"/3/HORK "S"/5/MARVDASHT
19	ALVAND//ALDAN"S"/IAS58/3 /VEE/NAC
20	OFOUGH (Check 3)

برای تجزیه پایداری عملکرد دانه ژنوتیپ‌های مورد بررسی از معیارهای پیشنهادی ابرهارت و راسل (Eberhart and Russell, 1966) با محاسبه ضریب خط رگرسیون (bi) و انحراف از خط رگرسیون (S^2d_i)، واریانس شوکلا (Shukla,1972)، معیار اکووالانس ریک (Wricke, 1962)، واریانس محیطی رومر (Roemer, 1917)، ضریب تغییرات محیطی فرانسیس و کاننبرگ (Francis and Kannenberg,1978) و ضریب تبیین پینتوس (Pinthus, 1973) استفاده شد. برای محاسبه پارامترهای پایداری مزبور از فرمول‌های ارائه شده در مقاله لین و همکاران (Lin *et al*., 1986) استفاده شد.

از روش تجزیه پایداری چند متغیره امی (AMMI) نیز برای ارزیابی پایداری عملکرد دانه ژنوتیپ‌ها استفاده شد. مدل AMMI مدلی است که به طور واضح اثر اصلی و اثر متقابل ژنوتیپ × محیط را جدا کرده و یک برآورد قابل اطمینان از عملکرد دانه را در اختیار قرار می دهد (Gauch, 1992). ژنوتیپ‌های با عملکرد دانه پایدار براساس این روش با رسم مقادیر دو مولفه اصلی در یک نمودار تعیین می‌گردند (Clay and Dombek, 1995). برای انجام تجزیه‌های آماری از نرم‌افزارهای SAS، GenStat و SPSS و بسته‌های نرم‌افزاری S116 و Ebrus استفاده شد.

ارزیابی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌ها در آزمایشگاه ژنتیک و مارکرهای مولکولی بخش

تحقیقات غلات، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج انجام شد. بذر ژنوتیپ‌های مورد بررسی در گلدان‌های پلاستیکی در شرایط گلخانه کشت شد. استخراج دی ان آ (DNA) جهت استفاده در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) گیاهان مورد بررسی از برگ‌های سالم و غیرآلوده گیاهان مورد بررسی و بر اساس روش CTAB سقائی- معروف و همکاران (Saghai-Maroof *et al.*, 1984) با کمی تغییرات انجام شد.

ارزیابی کمیت و کیفیت DNA توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Thermo Electron Corporation Wi53711 و طول موج‌های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر و همچنین الکتروفورز نمودن DNA استخراج شده در ژل آگارز ۱٪ انجام شد. غلظت DNA ژنوتیپ‌های مختلف برای استفاده در PCR، با استفاده از آب دو بار تقطیرشده استریل، به میزان ۲۵ نانوگرم در میکرولیتر تنظیم گردید.

نشانگرهای مورد استفاده در این آزمایش ۱۸ نشانگر ریزماهواره (SSR) بودند که بر اساس نتایج مطالعات قبلی در رابطه با نشانگرهای مرتبط با مکان‌های کنترل‌کننده صفات کمی (QTLs) مرتبط با تحمل به شوری در گندم (Byrt *et al.*, 2007; Ma *et al.*, 2007; Megan *et al.*, 2004) انتخاب شدند (جدول ۲).

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در حجم ۲۰ میکرولیتر برای هر واکنش با استفاده از PCR Buffer (1X)، آغازگرهای مورد نظر (200 nM)، آنزیم تگ پلیمراز (1 unit)، dNTPs به میزان 0.2 mM، $MgCl_2$ به میزان 2 mM و DNA به میزان 50 ng برای هر واکنش و با استفاده از دستگاه‌های ترموسایکلر MJ-Research و Bio-Rad انجام شد. برنامه حرارتی PCR به طور کلی به صورت یک چرخه واسرشته‌سازی اولیه دردمای۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت سه دقیقه، ۳۵ چرخه شامل مراحل واسرشته‌سازی در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه، مرحله اتصال مطابق دمای اتصال نشانگرها (جدول ۲) به مدت ۳۰ ثانیه و مرحله بسط در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه و در خاتمه یک چرخه بسط نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه تنظیم شد.

پس از اتمام چرخه‌ها، نمونه‌ها از دستگاه خارج شده و تا قبل ازالکتروفورز در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد قرارگرفتند. سپس محصولات حاصل از PCR با استفاده از الکتروفورز ژل پلی‌آکریل‌امید واسرشته‌ساز ۶٪ تحت ولتاژ ۱۰۰ ولت تفکیک شدند و ژل پلی‌آکریل‌امید با استفاده از محلول اتیدیوم‌برومایدِ (0.5 µg.ml) رنگ آمیزی و باندهای DNA هر نمونه تحت اشعه ماورابنفش در دستگاه ژل‌داکیومنت (UVitech) عکس‌برداری شدند. تجزیه و تحلیل و امتیازبندی باندهای حاصل برمبنای اندازه باندها در مقایسه با مارکر وزنی

جدول ۲- لیست نشانگرهای ریزماهواره، توالی آغازگرهای رفت و برگشت، مکان کروموزومی و دمای اتصال آغازگرهای مورد استفاده

Table 2. List of microsatellite markers, the sequences of their forward and reverse primers, their chromosome locations and annealing temperatures

ردیف No.	نشانگر Marker	آغازگر رفت Forward primer	آغازگر برگشت Reverse primer	کروموزوم Chromosome	دمای اتصال (درجه سانتی‌گراد) Annealing Temperature (^0C)
1	barc353	GAAGTTCCCAAAATGCCTCTGTC	GCGGATCGAAGACCTAAGAAAAG	2AL	55
2	gwm445	TTTGTTGGGGGTTAGGATTAG	CCTTAACACTTGCTGGTAGTGA	2A	61
3	gpw2206	GTTTTGCATCAACTCTGCCA	AGACTCACTTTGTGGCATCTGA	2A	60
4	gwm47	TTGCTACCATGCATGACCAT	TTCACCTCGATTGAGGTCCT	2A.2B	61
5	gwm294	GGATTGGAGTTAAGAGAGAACCG	GCAGAGTGATCAATGCCAGA	2A	61
6	gwm372	AATAGAGCCCTGGGACTGGG	GAAGGACGACATTCCACCTG	2A	61
7	gwm339	AATTTTCTTCCTCACTTATT	AAACGAACAACCACTCAATC	2A	51
8	gwm95	GATCAAACACACACCCCTCC	AATGCAAAGTGAAAAACCCG	2A	61
9	gwm312	ATCGCATGATGCACGTAGAG	ACATGCATGCCTACCTAATGG	2A	51
10	wmc170	ACATCCACGTTTATGTTGTTGC	TTGGTTGCTCAACGTTTACTTC	2A, 2D	60
11	wmc326	GGAGCATCGCAGGACAGA	GGACGAGGACGCCTGAAT	3B	61
12	wmc291	TACCACGGGAAAGGAAACATCT	CACGTTGAAACACGGTGACTAT	3B	61
13	cfa2170	TGGCAAGTAACATGAACGGA	ATGTCATTCATGTTGCCCCT	3A.3B	61
14	wmc687	AGGACGCCTGAATCCGAG	GGGAGCGTAGGAGGACTAACA	3B	61
15	gwm194	GATCTGCTCTACTCTCCTCC	CGACGCAGAACTTAAACAAG	4D	61
16	gpw345	TAACGTCTGCCAACCTCGTG	ATGGGCAGTGGTATTGAGGT	4D	60
17	cfd9	TTGCACGCACCTAAACTCTG	CAAGTGTGAGCGTCGG	3D	60
18	cfd18	CATCCAACAGCACCAAGAGA	GCTACTACTATTCATTGCGACCA	5D	60

(Mass ladder marker) صورت گرفت.

الگوهای نواری به صورت صفر (عدم وجود باند) و یک (وجود باند) امتیازدهی شد. برای رسم دندروگرام ابتدا ماتریس تشابه با روش دایس تشکیل و سپس با استفاده از روش UPGMA دندروگرام فواصل ژنتیکی ژنوتیپ‌ها با استفاده از نرم‌افزار NTSYSpc 2.0 رسم گردید. برای ترسیم پراکنش نمونه‌ها از روش تجزیه به مختصات اصلی (PCoA) نیز استفاده شد. میزان اطلاعات چندشکلی که نشان‌دهنده میزان چندشکلی یک نشانگر بوده و مقدار آن از صفر تا یک متغیر است، با استفادهاز رابطه $PIC = 1 - \sum_{i=0}^{n} P_i^2$ محاسبه شد. در این فرمول P_i فراوانی آلل iام و n تعداد آلل می‌باشد.

شاخص نشانگر نیز با استفاده از فرمول MI = PIC.N.β برای هر نشانگر محاسبه گردید (Anderson *et al*., 1993) که در این فرمول N تعداد کل باندها برای هر نشانگر و β نسبت چندشکل برای هر نشانگر می‌باشد. شاخص نشانگر علاوه بر مزایای شاخص PIC تعداد کل باند را هم در نظر می‌گیرد و پتانسیل هر نشانگر را برای تولید باند روی ژل محاسبه می‌شود (Powell *et al*., 1996). به منظور بررسی همبستگی بین ماتریس فاصله‌های اقلیدسی بین عملکرد دانه ژنوتیپ‌ها در محیط‌های مختلف و ماتریس فاصله اقلیدسی ژنوتیپ‌ها مبتنی بر داده‌های مولکولی از آزمون آماری مانتل (Mantel, 1967) استفاده شد. برای انجام آزمون مانتل از دستور MxComp در نرم‌افزار NTSYSpc 2.0 استفاده گردید.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس مرکب داده‌ها نشان داد اثر ژنوتیپ، اثر متقابل سال × مکان و سال × ژنوتیپ و همچنین اثر متقابل سه‌گانه ژنوتیپ × مکان × سال معنی‌دار بود (جدول ۳). معنی‌دار شدن اثر ژنوتیپ نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار بین ژنوتیپ‌ها بود که دلالت بر تفاوت ژنتیکی در میان آنها دارد. معنی‌دار بودن اثر سال × مکان نشان‌دهنده اختلاف شرایط محیطی در مناطق و سال‌های مورد آزمایش بود و معنی‌دار شدن اثر سال × ژنوتیپ حاکی از واکنش متفاوت ژنوتیپ‌ها نسبت به شرایط آب و هوایی سال‌های مختلف بود.

مقایسه میانگین عملکرد ژنوتیپ‌ها باآزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) نشان داد که لاین‌های شماره ۱۴، ۱۶، ۱۱ و ۵ با داشتن عملکرد ۴/۶۴۹، ۴/۵۱۷، ۴/۴۴۱ و ۴/۳۰۰ تن در هکتار عملکرد دانه بالاتری را دارا بودند و نسبت به شاهدهای آزمایش یعنی ارقام ارگ، بم و افق برتری داشتند (جدول ۴).

برای ارزیابی پایداری عملکرد دانه ژنوتیپ‌ها واریانس محیطی رومر (Roemer, 1917) برای کلیه ژنوتیپ‌ها محاسبه شد (جدول ۴). بر اساس این پارامتر پایدارترین عملکرد دانه به ترتیب مربوط به ژنوتیپ‌های شماره ۳ (کارچیا)،

جدول ۳- تجزیه واریانس مرکب برای عملکرد دانه ژنوتیپ‌های گندم نان تحت تنش شوری در محیط‌های مختلف در سال‌های زراعی ۹۲-۱۳۹۱ و ۹۳-۱۳۹۲

Table 3. Combined analysis of variance for grain yield of bread wheat genotypes under salinity stress in different environments in 2012-2013 and 2013-2014 cropping seasons

S.O.V.	منبع تغییرات	درجه آزادی df.	مجموع مربعات SS	میانگین مربعات MS
Year (Y)	سال	1	53.266	53.266ns
Location (L)	مکان	4	200.653	50.163ns
Y × L	سال × مکان	4	121.550	30.387**
Error 1	اشتباه ۱	30	32.871	1.096
Genotype (G)	ژنوتیپ	19	59.781	3.146*
G × L	ژنوتیپ × مکان	76	49.982	0.658ns
G × Y	ژنوتیپ× سال	19	26.738	1.407**
G × L × Y	ژنوتیپ × مکان × سال	76	48.719	0.641**
Error 2	اشتباه ۲	570	172.678	0.303
Total	کل	799	766.239	
C.V. (%)	درصد ضریب تغییرات		13.37	

* و **: به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.
ns: غیر معنی‌دار.

* and** : Significant at the 5% and 1% probability levels, respectively.
ns: Not- significant.

۱ (ارگ)، ۲۰(افق)، ۲ (بم) و ۱۵ بود. واریانس محیطی ژنوتیپ شماره ۱۴ که دارای بالاترین عملکرد دانه بود، بیشتراز سایر ژنوتیپ‌ها بود و ناپایدارترین عملکرد دانه را دشت. بهرحال، در محاسبه واریانس محیطی فقط پایین بودن نوسانات عملکرد دانه به عنوان پارامتر پایداری مدنظر می‌باشد و عملکرد دانه ژنوتیپ‌ها در آن نقشی ندارد.

از این رو ضریب تغییرات محیطی (C.V.i) فرانسیس و کاننبرگ (Francsis and Kannenberg, 1978) که در محاسبه آن علاوه بر نوسانات عملکرد دانه میانگین عملکرد دانه ژنوتیپ‌ها نیز نقش دارد، می‌تواند معیار مناسب‌تری در تعیین پایداری عملکرد دانه ژنوتیپ‌ها باشد. از لحاظ این آماره عملکرد دانه ژنوتیپ‌های ۱ (ارگ)، ۲۰(افق)، ۱۵، ۱۱ و ۲ (بم) به ترتیب کمترین ضریب تغییرات محیطی را دارا بودند. به استثنای رقم بم سایر این ژنوتیپ‌ها عملکرد دانه نسبتاً بالایی نیز داشتند (جدول ۴). ژنوتیپ ۱۴ علی‌رغم داشتن بیشترین عملکرد دانه، ضریب تغییرات محیطی بیشتری داشت و به نظر میرسد که فقط دارای سازگاری خصوصی در تعدادی از محیط‌ها بود. از آماره‌های واریانس و ضریب تغییرات محیطی در بررسی‌های متعددی برای ارزیابی پایداری عملکرد دانه ژنوتیپ‌های گندم و جو استفاده شده است و مزیت نسبی آماره ضریب تغییرات محیطی به واریانس محیطی در کلیه موارد اظهار

دول ۴- میانگین عملکرد و آماره های پایداری مختلف برای ژنوتیپ‌های گندم نان مورد مطالعه

Table 4. Yield mean and different stability statistics for studied bread wheat genoty

شماره ژنوتیپ Genotype No.	میانگین عملکرد دانه (تن در هکتار) Mean yield (tha^{-1})	ضریب تغییرات محیطی (CV_i)	واریانس محیطی (S^2i)	واریانس شوکلا (σ^2_i)	اکووالانس ریک (W_i)	درصد ضریب تبیین R^2_i (%)
1 (Arg)	4.206	15.873	0.446	0.107^{ns}	0.946	0.8
2 (Bam)	3.991	18.123	0.523	0.080^{ns}	0.730	0.85
3	3.406	19.159	0.426	0.560^{*}	4.621	0.21
4	4.053	23.095	0.876	0.185^{ns}	1.584	0.82
5	4.300	19.725	0.719	0.168^{ns}	1.447	0.78
6	3.986	19.806	0.623	0.159^{ns}	1.372	0.76
7	3.958	21.293	0.71	0.087^{ns}	0.787	0.88
8	4.158	22.187	0.851	0.104^{ns}	0.927	0.91
9	4.234	20.446	0.749	0.073^{ns}	0.673	0.92
10	4.197	22.767	0.913	0.214^{ns}	1.813	0.80
11	4.441	17.561	0.608	0.057^{ns}	0.543	0.90
12	4.289	18.409	0.623	0.272^{ns}	2.282	0.61
13	3.929	18.636	0.536	0.263^{ns}	2.211	0.59
14	4.649	24.042	1.249	0.451^{*}	3.739	0.71
15	4.241	17.101	0.526	0.030^{ns}	0.322	0.93
16	4.517	18.361	0.688	0.146^{ns}	1.267	0.8
17	3.859	24.187	0.871	0.240^{ns}	2.031	0.75
18	3.839	24.294	0.87	0.277^{ns}	2.325	0.71
19	3.848	20.371	0.614	0.139^{ns}	1.208	0.78
20 (Ofough)	4.258	16.459	0.491	0.056^{ns}	0.533	0.89

LSD5% = 0.747 LSD1% = 0.991

حتمال پنج و یک درصد.

* and** : Significant at the 5% and 1% probability levels, respectively.
ns: Not- significant.

شده است (Ghazvini and Yousefi, 1998; Mahfoozi *et al*., 2009).

به منظور تعیین سهم هر ژنوتیپ در مجموع مربعات اثرمتقابل ژنوتیپ × محیط آماره اکووالانس ریک (W_i) و واریانس پایداری شوکلا (σ_i^2) محاسبه شد و نتایج آن در جدول ۴ ارائه شده است. بر اساس این دو آماره ژنوتیپ‌های ۱۵، ۲۰ (افق)، ۱۱ و ۹ به ترتیب با داشتن کمترین مقادیر W_i و σ^2_i دارای پایدارترین عملکرد دانه بودند. این ژنوتیپ‌ها از میانگین عملکرد دانه نسبی بالایی نیز برخوردار بودند و عملکرد بیشتری نسبت به ارقام شاهد ارگ و بم داشتند (جدول ۴). بر مبنای آماره‌های پایداری W_i و σ^2_i، ژنوتیپ شماره ۱۴ که بالاترین عملکرد را در بین ژنوتیپ‌ها به خود اختصاص داده بود از پایداری عملکرد دانه پائینی برخوردار بود (جدول ۴).

نتایج بررسی سازگاری و پایداری عملکرد دانه ژنوتیپ‌ها با استفاده از پارامترهای پایداری ابرهارت و راسل (S^2_{di} و b_i) و ضریب تبیین یا R^2 (Pinthus, 1968) برای هر ژنوتیپ در جدول ۴ آورده شده است. واریانس انحراف از خط رگرسیون (S^2_{di}) برای اغلب ژنوتیپ‌ها معنی‌دار نبود که نشان‌دهنده تمرکز عملکرد دانه هر ژنوتیپ در اطراف خط رگرسیون بود و به عبارتی بر اساس معیار ابرهارت وراسل جزو ژنوتیپ‌های دارای عملکرد دانه پایدار بودند. البته واریانس انحراف از رگرسیون ژنوتیپ‌های شماره ۳، ۱۲، ۱۴ و ۱۸ در سطح ۱٪ و ژنوتیپ‌های ۱۰، ۱۳ و۱۷ در سطح ۵٪ معنی دار بود (جدول ۴). این امر بیانگر این می‌باشد که تغییرات عملکرد در این ژنوتیپ‌ها در محیط‌های مختلف از پراکندگی بیشتری برخوردار بود و در نتیجه عملکرد دانه ژنوتیپ‌های فوق‌الذکر ناپایدار محسوب می‌شود.

ازلحاظ ضریب رگرسیون خطی فقط ژنوتیپ‌های ۳ و ۱۴ به ترتیب با ضرایب رگرسیونی۰/۴۲ و ۱/۳ در سطح ۱٪ و ۵٪ تفاوت معنی‌دار با ضریب رگرسیونی متوسط ($b = 1$) داشتند که به ترتیب نشان‌دهنده سازگاری عمومی بسیار خوب ژنوتیپ ۳ (رقم کارچیا) در کلیه مناطق و سازگاری خصوصی ژنوتیپ ۱۴ در محیط‌های مطلوب و مساعد بود. با توجه به جدول ۴ ژنوتیپ‌های ۱۵، ۱۱، ۲۰، ۵ (افق) و ۱۶ با داشتن ضریب رگرسیونی نزدیک به یک، مقادیر کوچک انحراف از خط رگرسیون و عملکرد نسبتاً بالا به عنوان ژنوتیپ‌هایی با پایداری عملکرد دانه خوب و دارای سازگاری عمومی برای کلیه مناطق شناخته شدند.

با توجه به ضرایب رگرسیونی و میانگین عملکرد دانه، ژنوتیپ‌های ۱۴ و ۸ برای محیط‌هایی با پتانسیل بالا و مساعد قابل توصیه می‌باشند. بر اساس شاخص ضریب تبیین یا R^2 (Pinthus, 1968) ژنوتیپ‌های ۱۵، ۱۱، ۲۰ (افق) و ۹ دارای R^2 بالایی بودند و میانگین عملکرد بالاتری نیز نسبت به ارقام شاهد ارگ و بم داشتند و از سازگاری خوبی برخوردار بودند

(جدول ۴).

تحقیقات مشابهی در مورد بررسی سازگاری وپایداری عملکرد دانه غلات براساس روش‌های ابرهارت و راسل و ضریب تبیین پینتوس در مناطق مختلف کشور صورت گرفته که منجر به شناسایی و معرفی ارقام جدید گندم (Roustaii *et al.*, 2003)، تریتیکاله (Vahabzadeh *et al.*, 2006) و جو (Ghazvini and Yousefi, 1998) شده است.

تجزیه پایداری با استفاده از روش AMMI نشان داد که مولفه‌های اصلی اول تا پنجم اثر بسیار معنی‌داری در توضیح تغییرات اثر متقابل ژنوتیپ × محیط داشتند، ولی از نظر مقدار عددی نقش مولفه اول در مقایسه با مولفه‌های دوم تا پنجم در توضیح تغییرات اثر متقابل ژنوتیپ × محیط بارزتر بود. مولفه‌های اول تا پنجم به ترتیب ۳۴٪، ۱۸٪، ۱۴٪، ۱۳٪ و ۹٪ از کل تغییرات اثر متقابل ژنوتیپ × محیط را توضیح دادند. در مجموع پنج مولفه اول بیش از ۸۸٪ از کل تغییرات و سه مولفه اول بیش از ۶۵٪ از کل تغییرات را توضیح دادند (جدول ۵).

در آزمایشات مزرعه‌ای ارزیابی شوری، گیاهان معمولاً با شرایط ناهمگن خاک و توزیع نامتناسب شوری در مقایسه با آزمایشات گلدانی و یا هیدروپونیک مواجه هستند (Ashraf and McNeilly, 1991). این موضوع می‌تواند باعث تشدید اثر متقابل ژنوتیپ × محیط شود و در نتیجه معنی‌دار شدن مولفه‌های اصلی بیشتری در توضیح تغییرات اثر متقابل ژنوتیپ × محیط های شور در مقایسه با محیط‌های نرمال را موجب شود.

در شکل ۱ پراکنش ژنوتیپ‌ها بر پایه مقادیر مولفه‌های اصلی اول و دوم نشان داده شده است.این بای‌پلات جمعاً ۵۲ درصد اطلاعات مربوط به اثر متقابل ژنوتیپ در محیط را توضیح داد. بر اساس نزدیک بودن به مبدا محورهای افقی و عمودی که به ترتیب نشان دهنده کمترین مقادیر مطلق برای اولین و دومین مولفه اصلی هستند ژنوتیپ‌هایی که دارای کمترین نقش در اثر متقابل ژنوتیپ × محیط و دارای عملکرد دانه پایدار بودند، شناسایی شدند.

بر این اساس ژنوتیپ‌های ۷، ۲ (بم)، ۱۱، ۱ (ارگ)، ۱۵، ۹ و ۲۰ (افق) به ترتیب دارای کمترین مقادیر مطلق برای اولین و دومین مولفه اصلی بودند و بنابراین پایداری عملکرد دانه بالایی برای مکان‌های مورد بررسی نشان دادند (شکل ۱). لاین‌های شماره ۷ و ۲ (بم) که پایدارترین عملکرد دانه را دارا بودند از عملکرد پائین‌تری نسبت به سایر ژنوتیپ‌های داشتند (جدول ۴). از میان سایر ژنوتیپ‌های دارای عملکرد دانه پایدار لاین شماره ۱۱ با توجه به پایداری عملکرد دانه بالا (۴/۴۴۱ تن در هکتار) و پایدار به عنوان ژنوتیپی با سازگاری عمومی قابل توجه برای کلیه مناطق شناخته شد.

بررسی سازگاری خصوصی لاین‌ها در مناطق مختلف نشان داد که در ایستگاه‌های کرمان، بیرجند و زابل، ژنوتیپ‌های شماره ۱۴ و ۱۶ سازگاری خصوصی بهتری نسبت به

جدول ۵ -تجزیه پایداری ژنوتیپ‌های مورد مطالعه بر مبنای روش AMMI
Table 5. Stability analysis of studiedgenotypes using AMMI method

S.O.V.	منبع تغییرات	درجه آزادی DF	مجموع مربعات SS	میانگین مربعات MS
Genotypes (G)	ژنوتیپ	19	59.8	3.146**
Environments (E)	محیط	9	375.5	41.72**
G × E	ژنوتیپ × محیط	171	125.4	0.734**
IPCA 1	مولفه اول	27	42.1	1.559**
IPCA 2	مولفه دوم	25	22.2	0.888**
IPCA 3	مولفه سوم	23	17.6	0.763**
IPCA 4	مولفه چهارم	21	16.7	0.795**
IPCA 5	مولفه پنجم	19	11.7	0.616**
Residuals	باقیمانده	56	15.2	0.271ns
Error	اشتباه	570	172.7	0.303

* و**: به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.
ns: غیر معنی‌دار.

* and** : Significant at the 5% and 1% probability levels, respectively.
ns: Not- significant.

لاین‌های دیگر نشان دادند ولی در ایستگاه اصفهان ژنوتیپ‌های شماره ۱۱ و ۲۰ (افق) سازگاری خصوصی بیشتری نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها داشتند. در ایستگاه یزد نیز ژنوتیپ‌های شماره ۱۴ و ۱۰ سازگاری خصوصی مطلوبی در مقایسه با لاین‌های دیگر داشتند.

نیکخواه و همکاران (Nikkhah *et al*., 2007) در بررسی پایداری عملکرد دانه ۲۰ لاین امیدبخش جو برای مناطق معتدل کشوربا استفاده از روش چند متغیره AMMI ژنوتیپ‌های شماره ۱۶ و ۱۷ را که دارای کمترین مقادیر IPC1 و IPC2 بودند به عنوان ژنوتیپ‌های دارای عملکرد پایدار معرفی نمودند.آقایی سربرزه و همکاران (Aghaee Sarbarze *et al*., 2012) برای بررسی اثر متقابل ژنوتیپ × محیط در ارقام و لاین‌های گندم دوروم در منطقه گرم جنوب کشوراز روش AMMI استفاده کردند و اظهار نمودندکه ژنوتیپ‌های ۱۸ و ۲۰ کمترین فاصله از مرکز بای‌پلات را داشتند و به عنوان ژنوتیپ‌های با عملکرد پایدار شناخته می‌شدند.

نتایج بررسی مولکولی ژنوتیپ‌های گندم نان مورد بررسی بر اساس نشانگرهای SSR نشان داد که در ۱۸ جفت نشانگر SSR مورد استفاده در این بررسی در مجموع ۵۴ آلل مشاهده شد، به طوری که تعداد آلل برای هرآغازگراز دو تا چهار آلل متغیر بود و میانگین تعداد آلل برای



شکل ۱- بای پلات ژنوتیپ‌های مورد بررسی بر اساس مقادیر مولفه‌های اصلی اول و دوم
Fig. 1. Biplot of genotype IPCA1 scores versus IPCA2 scores

هرجفت نشانگر سه آلل بود. نشانگرهای gpw2206، gwm47، gwm294، gwm312 و wmc326 با تعداد چهار آلل بیشترین تعداد آلل را در میان نشانگرها داشتند (جدول ۶).

در تحقیق انجام شده توسط اسماعیلی و همکاران (Esmaili *et al*., 2012) برای ارزیابی تنوع ژنتیکی ۳۰ توده آژیلوپس تائوشی (*Aegilops tauchii*) جمع‌آوری شده از شمال و شمال غربی کشور، با استفاده از ۱۷ نشانگر ریزماهواره تعداد آلل‌ها در هر نشانگر بین یک تا هفت متغیر بود و میانگین تعداد آلل‌ها برای هر نشانگر برابر ۴/۶ عدد بود. اطمینان و همکاران (Etminan*et al*., 2018) تنوع ژنتیکی بین ۸۰ توده بومی گندم زراعی و گونه‌های خویشاوند گندم را با استفاده از ۱۵ نشانگر ریزماهواره مورد ارزیابی قرار دادند و اظهار نمودند که تعداد آلل‌ها برای هر نشانگر بین ۸ تا ۱۲ عدد متغیر بود. بدیهی است که تعداد بیشتر

جدول ۶- تعداد آلل، میزان اطلاعات چند شکلی (PIC) و شاخص نشانگر (MI) برای نشانگرهای SSR مورد استفاده

Table 6. Number of alleles, polymorphism information content (PIC) value and marker index (MI) for SSR markers

نشانگر Marker	تعدادآلل No. of alleles	میزان اطلاعات چندشکلی PIC	شاخص نشانگر MI
barc353	2	0.105	1.075
gwm445	3	0.123	1.145
gpw2206	4	0.135	1.206
gwm47	4	0.213	1.344
gwm294	4	0.135	1.206
gwm372	3	0.123	1.145
gwm339	3	0.223	1.278
gwm95	3	0.343	1.458
gwm312	4	0.173	1.271
wmc170	3	0.177	1.215
wmc326	4	0.135	1.206
wmc291	3	0.263	1.335
cfa2170	2	0.255	1.193
wmc687	2	0.095	1.068
gwm194	2	0.255	1.193
gpw345	2	0.180	1.133
cfd9	3	0.227	1.283
cfd18	3	0.123	1.145
Total جمع	54	-	-
Mean میانگین	3	0.182	1.217

آلل‌های بدست آمده در دو تحقیق فوق‌الذکر در مقایسه با این تحقیق می‌تواند به تعداد بیشتر ژنوتیپ‌های مورد بررسی در آن پژوهش‌ها نسبت داده شود. کیمورا (Kimura, 1983) تنوع ژنتیکی بیشتر یک جمعیت را به دو عامل اندازه موثر جمعیت و نسبت جهش‌های ژنی در جمعیت نسبت داد.

میزان اطلاعات چندشکلی (PIC) و شاخص نشانگر (MI) هرآغازگر، به طور جداگانه محاسبه گردید که نتایج در جدول ۶ آورده شده است. بیشترین میزان اطلاعات چندشکلی (PIC = 0.343) و بالاترین مقدار شاخص نشانگر (MI = 1.458) مربوط به آغازگر gwm95 بود که از قدرت تفکیک بالاتری نسبت به بقیه آغازگرها برخوردار بود. نشانگر wmc291 با PIC = 0.263 و MI = 1.335 در رتبه دوم قرار گرفت. میانگین میزان اطلاعات چند شکلی و شاخص نشانگر برای کل ۱۸ نشانگر مورد استفاده به ترتیب برابر ۰/۱۸۲ و ۱/۲۱۷ محاسبه شد (جدول ۶).

باتوجه به نتایج بدست آمده، نشانگرهای gwm95 و wmc291 که میزان اطلاعات

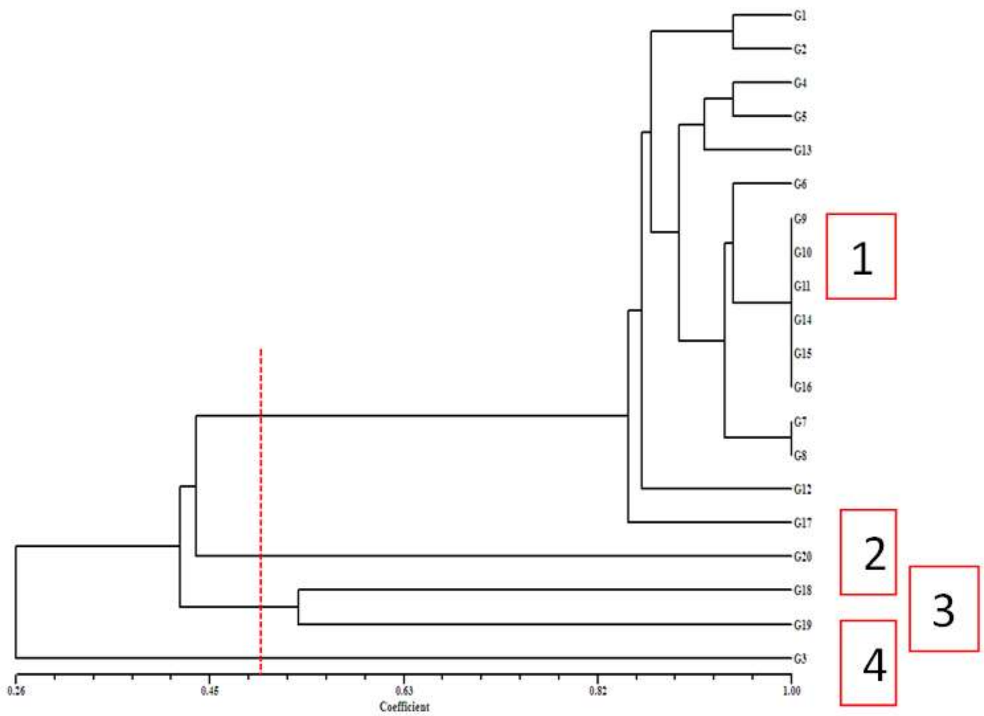
چندشکلی و شاخص نشانگر بزرگتری دارند، از قدرت تفکیک بالاتری در مقایسه با سایرآغازگرها برخوردار بودند و می‌توانند به عنوان نشانگرهای مفید جهت بررسی تنوع ژنتیکی در گندم نان مورد استفاده قرار گیرند. نتایج بدست آمده از این تحقیق نشان‌دهنده وجود تفاوت ژنتیکی بالایی در ارقام و لاین‌های امیدبخش متحمل به شوری گندم داخلی است و بر اساس این نتایج می‌توان پیش‌بینی نمودکه استفاده از این ژنوتیپ‌ها در برنامه‌های دورگ‌گیری می‌تواند به عنوان راهکار مناسبی جهت وارد نمودن ژن‌های جدید و احتمالاً موثر در تحمل به شوری در داخل خزانه ژنی گندم ایران باشد.

شوروزدی و همکاران (Shuorvazdi *et al.*, 2013) با ارزیابی ۵۵۱ ژنوتیپ بومی و ۲۱ رقم تجاری و لاین به‌نژادی جو، با استفاده از ۴۱ جفت آغازگر ریزماهواره، در مجموع ۲۲۱ آلل با دامنه دو تا ۱۴ و میانگین پنج آلل به ازای هر جایگاه ژنی گزارش کردند. در مطالعه آنها میزان PIC برای نشانگرها بین ۰/۰۵ تا ۰/۹ با میانگین ۰/۵۱ متغیر بود.

احمد و همکاران (Ahmad *et al.*, 2013) تنوع موجود در بین ۱۷۲ ژنوتیپ گندم پاکستانی و خارجی را با استفاده از تست جوانه‌زنی در شوری و رشد اولیه گیاهان در محیط‌های شور را بررسی کردند و تنوع مولکولی ژنوتیپ‌ها را با استفاده از نشانگرهای RAPD و SSR ارزیابی کردند. نتایج نشان داد که از مجموع ۳۸ نشانگر SSR بکار رفته ۸۲ آلل با اندازه‌های مختلف تکثیر شدند و تعداد آلل‌ها به ازای هر نشانگر در دامنه بین یک تا چهار آلل متغیر بود که این نتیجه با نتایج این تحقیق مطابقت دارد.

تجزیه خوشه‌ای داده‌های SSR بر اساس الگوریتم UPGMA و روش ضریب تشابه دایس (Dice) با استفاده از نرم‌افزار NTSYSpc 2.0 انجام شد (شکل ۲). تجزیه خوشه‌ای بر اساس داده‌های مولکولی، ژنوتیپ‌ها را در چهار گروه کلی طبقه‌بندی کرد. چهارده لاین مورد بررسی به همراه ارقام شاهد ارگ و بم از تشابه ژنتیکی بیشتری برخوردار بودند و در گروه یک قرار گرفتند (شکل ۲). ژنوتیپ‌های ۲۰ (افق) و ۳ (کارچیا) به صورت جداگانه به ترتیب در گروه‌های ۲ و ۴ قرار گرفتند. این موضوع نشان‌دهنده تفاوت ژنتیکی زیاد این ژنوتیپ‌ها با سایر ارقام و لاین‌های مورد بررسی بود.

نتایج بررسی مولکولی نشان داد که رقم افق که حاصل دو رگ‌گیری بین گندم Attila از مرکز بین‌المللی تحقیقات ذرت و گندم (CIMMYT) و لاین GF-gy54 با منشا خارجی می‌باشد از نظر ژنتیکی تفاوت قابل ملاحظه‌ای با سایر لاین‌های مورد بررسی، که اغلب حاصل دورگ‌گیری بین توده‌های بومی ایران می باشند، داشت. همچنین رقم کارچیا دارای منشاء خارجی (هندوستان) است و ساختار ژنتیکی



شکل ۲- تجزیه خوشه‌ایداده‌های SSR بر اساس الگوریتم UPGMA و روش ضریب تشابه دایس (Dice) برای ژنوتیپ‌های گندم نان

Fig. 2. Cluster analysis of SSR data for bread wheat genotypes using UPGMA algorithm and Dice similarity coefficient

متفاوتی با ارقام ولاین‌هایی با منشاء ایرانی دارد‌که داده‌های مولکولی به خوبی تایید‌کننده این تفاوت‌های ژنتیکی بود. گروه ۳ شامل لاین‌های ۱۸ و ۱۹ بود که دارای تشابه ژنتیکی بیشتری با یکدیگر، ولی تفاوت‌های ژنتیکی قابل ملاحظه با ژنوتیپ‌های سایر گروه‌ها داشتند (شکل ۲).

تشابه ژنتیکی ارقام و لاین‌های گندم مورد مطالعه بین ۰/۰۶۳ تا یک متغیر بود که نشان‌دهنده تنوع بالای موجود در سطح ژنوم این ژنوتیپ‌ها بود. میانگین ضریب تشابه بین ژنوتیپ‌ها نیز ۰/۷۱ بدست آمد. کمترین تشابه بین ژنوتیپ ۳ (کارچیا) و ژنوتیپ ۲۰ (افق) با مقدار ۰/۰۶۳ بدست آمد. بیشترین ضریب تشابه (با مقدار یک) نیز بین ژنوتیپ‌های ۹، ۱۰، ۱۱، ۱۴، ۱۵ و ۱۶ حاصل شد که از این میان ژنوتیپ‌های ۱۴، ۱۵ و ۱۶ لاین خواهری (Sister line) و ژنوتیپ‌های ۱۰ و ۱۱ نیز لاین خواهری بودند و این دو با ژنوتیپ ۹ نیز نسبت نیمه‌خواهری (Half-sibling) داشتند.

بهر صورت، تشابه کامل ژنتیکی سه ژنوتیپ خواهری اول با سه ژنوتیپ بعدی می‌تواند به

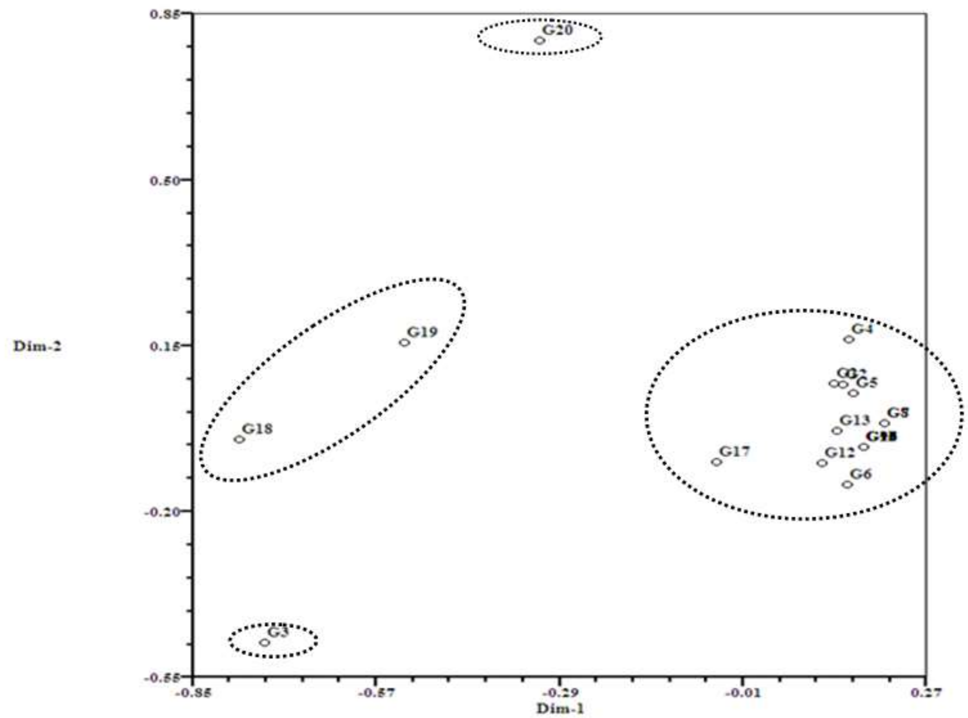
تشابه ژنتیکی این لاین‌ها در مکان‌های کروموزومی مورد مطالعه در این بررسی مربوط باشد. همانطوریکه قبلاً نیز عنوان شد کلیه لاین‌های مورد بررسی در این تحقیق از ژنوتیپ‌های متحمل به شوری می‌باشد و نشانگرهای مورد استفاده نیز از میان نشانگرهای مرتبط با مکان‌های کنترل‌کننده صفات کمی (QTLs) مرتبط با تحمل به شوری در گندم انتخاب شده بودند و بنابراین تشابه مکان‌های کنترل‌کننده تحمل به شوری در تعدادی از این ژنوتیپ‌ها محتمل می باشد.

تجزیه به مختصات اصلی (PCoA) با استفاده از داده‌های مولکولی و بر اساس ضریب تشابه دایس با استفاده از نرم‌افزار NTSYSpc 2.0 انجام شد. نتایج بدست آمده نشان داد که دو مولفه اول و دوم به ترتیب با مقادیر ۳۴/۹۹ و ۱۷/۸۲ درصد مجموعاً بیش از ۵۲ درصد از کل تغییرات مولکولی را توضیح دادند. نمودار دو بعدی پراکنش ژنوتیپ‌ها بر اساس مولفه‌های اول و دوم در شکل ۳ نشان داده شده است. نتایج PCoA موید گروه‌بندی تجزیه خوشه‌ای بوده و مطابقت زیادی با گروه‌بندی بر اساس تجزیه خوشه‌ای داشت. به علت تشابه ژنتیکی صددرصد شش ژنوتیپ ۹،۱۰، ۱۱، ۱۴، ۱۵ و ۱۶ در گروه اول، این لاین‌ها کاملاً روی هم منطبق شدند (شکل ۳).

در این تحقیق، تنها از مکان‌های ژنومی خاصی که با صفت تحمل به شوری در گندم مرتبط بود جهت تمایز ژنوتیپ‌ها استفاده شد و لذا روش‌های چند متغیره مورد استفاده قادر به تفکیک مناسب ژنوتیپ‌ها نبودند. بنابراین، انتظار می‌رود که با استفاده از نشانگرهای بیشتر بتوان تمایز و پراکنش بهتری برای ژنوتیپ‌های داخل این گروه به دست آورد. جیا و همکاران (Jia *et al.*, 2010) در بررسی تنوع ژنوتیپ‌های بومی و تجاری گندم بامنشأ چین و گندم‌های تجاری با منشأ غیرچین با استفاده از ۳۳ نشانگر SSR گزارش کردند که در تجزیه به بردارهای اصلی دو بردار اول و دوم ۴۳/۲ واریانس کل را توضیح دادند و براساس این دو بردار پراکنش ژنوتیپ‌ها به دو گروه مجزا انجام گردید به طوری که ژنوتیپ‌های بومی چین در هر دو گروه و ارقام تجاری چین وغیرچین تقریباً ازهم جدا شدند.

در مجموع نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای و تجزیه به مختصات اصلی بر اساس داده‌های مولکولی، همخوانی نسبی کمتری با نتایج حاصل از ارزیابی مزرعه‌ای داشتند. برای بررسی همبستگی بین دو ماتریس فاصله داده‌های مولکولی و عملکرد دانه در محیط‌های مختلف از آزمون آماری مانتل (Mantel, 1967) استفاده شد. نتایج این آزمون نشان داد که همبستگی بین عملکرد دانه ژنوتیپ‌های گندم در محیط‌های شور با تنوع آللی ژنوتیپ‌ها حدود ۰/۱۳ و غیرمعنی‌دار بود.

یکی از دلایل این همبستگی ضعیف می‌تواند به تفاوت اساسی در ساختار ژنتیکی ژنوتیپ‌های گندم ایرانی در مقایسه با ارقام



شکل ۳- دیاگرام دو بعدی پراکنش ارقام و لاین‌های امیدبخش متحمل به شوری گندم نان بر اساس داده‌های مولکولی با روش‌تجزیه‌به مختصات اصلی

Fig. 3. Biplot of distribution of salt-tolerant bread wheat promising lines and cultivars based on molecular data using principal coordinates analysis method

گندم خارجی،که بر مبنای آن QTLهای مرتبط با شوری شناسایی شده‌اند، نسبت داده شود. نشانگرهای مکان‌یابی‌شده برای این QTL ها بیشتر بر اساس مطالعاتی که بر روی گندم‌هایی با مبدا آمریکای شمالی، استرالیا و اروپا انجام شده معرفی شده‌اند (Byrt *etal*., 2007; Ma *et al*., 2007; Megan *et al*., 2004) و احتمال تفاوت در مکان‌های ژنی موثر در تحمل به شوری در این ارقام با ارقام گندم ایرانی، که منشا آنها بیشتر از دورگ‌گیری بین توده‌های بومی و ارقام محلی ایرانی و یا ارقام با منشاء مراکز بین‌المللی وجود دارد.

گزینش کلاسیک برای عملکرد گیاه در شرایط تنش شوری مزرعه اگر چه هنوز هم بهترین روش مورد علاقه به‌نژادگران است ولی تحت تاثیر عوامل محیطی مانند غیریکنواختی خاک و شرایط آب و هوایی قرار می‌گیرد. برای فهم اساس ژنتیکی صفات پیچیده مانند تحمل به شوری، لازم است تا اطلاعات ژنوتیپی حاصل از نشانگرهای مولکولی با داده‌های فنوتیپی ارتباط داده شوند. در این تحقیق ارتباط نتایج مزرعه ای ژنوتیپ‌های گندم تحت تنش

شوری با داده‌های مولکولی آنها مطالعه شد ولی نتایج حاکی از همبستگی ضعیفی بین این داده‌ها بود. بهرحال، علی‌رغم این همبستگی ضعیف، نشانگرهای SSR به خوبی توانستند تفاوت موجود میان ژنوتیپ‌های گندم متحمل به شوری را آشکار سازند. این تنوع ژنتیکی می‌تواند برای مدیریت ژرم‌پلاسم گندم در برنامه‌های تحقیقات شوری وتهیه نقشه‌یابی دقیق ژنومی سودمند باشد و همچنین به طور موثری در برنامه‌های به‌نژادی تحمل به شوری در گندم مورد استفاده قرار گیرد.

سپاسگزاری

نگارندگان از زحمات کلیه محققین محترم مراکز تحقیقاتی محل اجرای پروژه و واحد نشانگرهای مولکولی بخش تحقیقات غلات موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر که در اجرای این تحقیق همکاری نمودند تشکر و قدردانی می‌کنند.

References

Aghaee Sarbarzeh, M., Dastfal, M., Farzadi, H., Andarzian, B., Shahbazpour Shahbazi, A., Bahari, M., and Rostami, H. 2012. Evaluation of durum wheat genotypes for yield and yield stability in warm and dry areas of Iran. Seed and Plant Improvement Journal 28 (2): 315-325 (in Persian).

Ahmad, M., Shahzad, A., Iqbal, M., Asif, M., and Hirani, A. H. 2013. Morphological and molecular genetic variation in wheat for salinity tolerance at germination and early seedling stage. Australian Journal of Crop Science 7 (1): 66-74.

Anderson, J. A., Church, J. E., Autrique, S. D., Thanksley, S., and Sorrells, M. E. 1993. Optimizing parental selection for genetic linkage map. Journal of Genome 36 (1): 181-188.

Ashraf, M., and T. McNeilly. 1991. A potential source of variation for salt tolerance in spring wheat. Hereditas-Landskrona 115: 115-120.

Byrt, C. S., Platten, J. D.,Spielmeyer, W., James, R. A., Lagudah, E. S., Dennis, E. S., Tester, M., and Munns, R. 2007. HKT 1;5-like cation transporters linked to Na+ exclusion loci in wheat, Nax2 and KNa1. Plant Physiology 143:1918-1928.

Clay, H., and Dombek, D. 1995. Comparing soybean cultivars ranking and selection for yield with AMMI and full–data performance estimates. Crop Science 35: 1536-1541.

Eberhart, S. A., and Russell, W. A. 1966. Stability parameters for comparing varieties. Crop Science 6: 36-40.

Esmaeilzadeh Moghaddam, M., Jalal Kamali, M. R., Pena, R. J., and Najafian, G. 2017. Genetic diversity for high and low molecular weight glutenin subunits in local and commercial bread wheat cultivars released since 1951 in Iran: I- Irrigated. Crop Breeding Journal 7: 1-7.

Esmaili, K., Mehrabi, A. A., Etminan, A. R., Azizian, E., Mansoury, S., Hossein Abadi, M., and Haidarnezhadian, M. 2013. Study of genetic diversity in *Aeghilops tauschii* accessions using SSR marker. Modern Genetics Journal 7 (4): 333-242 (in Persian).

Etminan, A. R., Mehrabi, A. A., Shooshtari, L., and Moradkhani, H. 2018. Applicability of CBDP markers to study of genetic diversity among some of the cultivated wheat accessions and their ancestral species. Modern Genetics Journal 13 (1): 79-89 (in Persian).

FAO. 2018. FAO soils portal, salt-affected soils. FAO/AGL Rome. Retrieved from: http://www.fao.org/soils-portal/soil-management/management-of-some-problem-soils/salt-affected-soils/more-information-on-salt-affected-soils/en/ (Accessed on: October 1, 2018).

Francis, T. R., and Kannenberg, L. W. 1978. Yield stability studies in short-season maize. Canadian Journal of Plant Science 58: 1025-1034

Gauch, H. G. 1992. Statistical analysis of regional yield trials: AMMI analysis of factorial designs. Elsevier, Amsterdam, Netherlands. 277 pp.

Ghazvini, H., and Yousefi, A. 1998. Evaluation of adaptability and yield comparison of advanced barley lines in warm zones. Iranian Journal of Crop Science 1 (4): 29-41 (in Persian)

Haghnia, G. H. 2004. Plant tolerance to salinity. Mashhad University Publishers. 32 pp. (in Persian)

Jaradat, A. A., Shahid, M., and Al-Maskri, A. 2004. Genetic diversity in the Batinin barley landrace from Oman: II. Response to salinity stress. Crop Science 44: 997-1007.

Jia, Q. J., Zhu, J. H., Wang J. M., and Yang, J. M. 2010. Fusarium head blight evaluation and genetic diversity assessment by simple sequence repeats in 88 barley

cultivars and landraces. pp.: 298-311. In: Ceccarelli, S. and Grando, S., (eds.). Proceedings of the 10th International Barley Genetics Symposium.

Kimura, M. 1983. The neutral theory of molecular evolution. Cambridge University Press. Cambridge Cambridge shire, New York, NY, USA. 384 pp.

Lin, C. S., Binns, M. R., and Lefcovitch, L. P. 1986. Stability analysis: where do we stand? Crop Science 26: 894-900.

Loss, S. P., and Siddique, M. K. H. 1994. Morphological and physiological traits associated with wheat yield increased in Mediterranean environments. Agronomy Journal 25: 224-276.

Ma, L., Zhou, E., and Hou, N. 2007. Genetic analysis of salt tolerance in a recombinant inbred population of wheat (*Triticum aestivum* L.). Euphytica 153: 109-117.

Maghsoudi Moud, A. A. 2009. Physiological, morphological and anatomical bases of drought tolerance in wheat. Shahid Bahonar University of Kerman Publication, Kerman, Iran. 240 pp. (in Persian)

Mahfoozi, S., Amini, A., Chaichi, M., Jasemi, S. Sh., Nazeri, M., Abedi Oskooie, M. S., Aminzadeh, G., and Rezaie, M. 2009. Study on grain yield stability and adaptability of winter wheat genotypes using different stability indices under terminal drought stress conditions. Seed and Plant Improvement Journal 25(1): 65-82 (in Persian).

Mantel, N. A. 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. Cancer Research 27 (2): 209-220.

Megan, P., Evans, S., Ray, A., and Munns, R. 2004. Locus for sodium exclusion (Nax1), a trait for salt tolerance, mapped in durum wheat. Functional Plant Biology 31: 1105-1114.

Munns, R., Hare, R. A., James, R. A., and Rebetzke, G. J. 2000. Genetic variation for improving the salt tolerance of durum wheat. Australian Journal of Agricultural Research 51 (1): 69-74.

Nikkhah, H. R., Yousefi, A., Mortazavian S. M., and Arazmjoo, M. 2007. Analysis of yield stability of barley (*Hordeum vulgare* L.) genotypes using additive main effects and multiplicative interaction (AMMI) model. Iranian Journal of Crop Sciences. 9 (1): 1-13.

Pazira, E., and Sadeghzadeh, K. 1999. Optimizing soil and water use in Iran. pp. 37-53. In: van Duivenbooden, N., Pala, M., Studer, C., and Bieders, C. L. (eds.) Efficient soil and water use: the key to sustainable production in the dry areas of west Asia, and North and Sub-Saharan Africa. Aleppo, Syria and Patancheru, India, ICARDA; ICRISAT.

Pinthus, M. J. 1973. Estimate of genotypic value: A proposed method. Euphytica 22:121-123.

Powell, W., Morgante, M., Ander, C., Hanafey, M., Vogel, J., Tingy, S., and Rafalaski, A. 1996. The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. Journal of Molecular Breeding 2 (3): 225-238.

Quereshi, A. S., Qadir, M., Heydari, N., Turral, H., and Javadi, A. 2007. A review of management strategies for salt–prone land and water recourses in Iran. IWMI Working paper 125. International Water Management Institute (IWMI), Colombo, Sri Lanka. 30 pp.

Roemer, T. 1917. Sind die ertragsreichen sorten ertragssichers? Mitt. DLG. 32: 87-89 (in German).

Roustaii, M., Sadeghzadeh Ahari, D., Hesami, A., Soleymani, K., Pashapour, H., Nader, Mahmoudi, K., Pour Siah Bidi, M. M., Ahmadi, M., Hassanpour Hosni, M., and Abediasl, G. 2003. Study of adaptability and stability of grain yield of bread wheat genotypes in cold and moderate-cold dryland areas. Seed and Plant Improvement Journal 19 (2): 263-275 (in Persian).

Saghai-Maroof, M. A., Soliman, K. M., Jorgensen, R. A., and Allard, R. W. 1984. Ribosomal DNA spacer-length polymorphism in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. Proceedings of the National Academy of Sciences 81: 8014-8019.

Shiferaw, B., Smale, M., Braun, H. J., Duveiller, E., Reynolds, M., and Muricho, G. 2013. Crops that feed the world 10. Past successes and future challenges to the role played by wheat in global food security. Food Security 5 (3): 291-317.

Shukla, G. K. 1972. Some statistical aspects of partitioning genotype-environmental components of variability. Heredity 29: 237-245.

Shuorvazdi, A., Mohammadi, S. A., Norozi, M., and Sadeghzadeh, B. 2013. Molecular analysis of genetic diversity and relationships of barley landraces based on microsatellite markers. Journal of Plant Genetic Research 1 (1): 51-64 (in Persian).

Vahab Zadeh, M., Amini, A., Ghasemi, M., Nazeri, M., and Koohkan, Sh. A. 2006. Study of adaptation and grain yield stability in promising lines of Triticale. Journal of Agriculture 8 (1): 69-83.

Wricke, G. 1962. On a method of understanding the biological diversity in field research. Z. Pflanzenzucht 47: 92-46.